This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning documents *will not* correct images, please do not report the images to the Image Problem Mailbox.

PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 6 : C08G 85/00, A61K 49/00 — A1

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 95/17451

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 29. Juni 1995 (29.06.95)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP94/04016

(22) Internationales Anmeldedatum: 2. December 1994 (02.12.94)

(30) Prioritätsdaten:
P 43 44 460.1 22. December 1993 (22.12.93) DE

(71) Anmelder *(für alle Bestimmungsstaaten ausser US)*: SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; Müllerstrasse 178, D-13353 Berlin (DE).

(72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder *(nur für US)*: SCHMITT-WILLICH, Heribert [DE/DE]; Görrestrasse 20, D-12161 Berlin (DE). PLATZEK, Johannes [DE/DE]; Clayallee 64, D-14195 Berlin (DE). MÜHLER, Andreas [DE/DE]; Dolgenseestrasse 26, D-10319 Berlin (DE). FRENZEL, Thomas [DE/DE]; Paul-Schneider-Strasse 41, D-12247 Berlin (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: AU, BY, CA, CN, CZ, HU, JP, KR, NO, NZ, PL, RU, SK, UA, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

Veröffentlicht
Mit internationalem Recherchenbericht.
Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.

(54) Title: METAL COMPLEXES OF DENDRIMERIC MOLECULES, DIAGNOSTIC AGENTS CONTAINING THEM AND PROCESS FOR PRODUCING THE COMPLEXES AND AGENTS

(54) Bezeichnung: METALLKOMPLEXE VON DENDRIMEREN MAKROMOLEKÜLEN, DIESE ENTHALTENDE DIAGNOSTISCHE MITTEL SOWIE VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG DER KOMPLEXE UND MITTEL

(57) Abstract

The invention relates to novel metal complexes of dendrimeric macromolecules containing 8 to 64 ions of an element of atomic number the 21-29, 39, 42-44 or 57-83 and a polymeric, complex-forming ligand of formula (I) $A-(X)_b$, in which A, X and b have different meanings, agents containing these compounds and their use in diagnosis. The invention also relates to a process for producing the complexes and agents.

(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft neue Metallkomplexe von dendrimeren Makromolekülen enthaltend 8 bis 64 Ionen eines Elementes der Ordnungszahlen 21-29, 39, 42-44, oder 57-83 und einen polymeren, komplexbildenden Liganden der Formel (I) $A-(X)_b$, in der A, X und b unterschiedliche Bedeutung haben, diese Verbindungen enthaltende Mittel sowie die Verwendung dieser in der Diagnostik. Die Erfindung betrifft weiterhin ein Verfahren zur Herstellung der Komplexe und Mittel.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	GA	Gabon	MR	Mauretanien
AU	Australien	GB	Vereinigtes Königreich	MW	Malawi
BB	Barbados	GE	Georgien	NE	Niger
BE	Belgien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BJ	Benin	IE	Irland	PL	Polen
BR	Brasilien	IT	Italien	PT	Portugal
BY	Belarus	JP	Japan	RO	Rumänien
CA	Kanada	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SI	Slowenien
CI	Côte d'Ivoire	KZ	Kasachstan	SK	Slowakei
CM	Kamerun	LI	Liechtenstein	SN	Senegal
CN	China	LK	Sri Lanka	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
ES	Spanien	MG	Madagaskar	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	ML	Mali	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MN	Mongolei	VN	Vietnam

Metallkomplexe von dendrimeren Makromolekülen, diese enthaltende diagnostische Mittel sowie Verfahren zur Herstellung der Komplexe und Mittel

Die Erfindung betrifft den in den Patentansprüchen gekennzeichneten Gegenstand, das heißt neue Metallkomplexe von dendrimeren Makromolekülen, diese Verbindungen enthaltende Mittel, die Verwendung der Komplexe in der Diagnostik sowie Verfahren zur Herstellung dieser Komplexe und Mittel.

Magnevist® (Gd-DTPA/dimeglumin) ist das erste registrierte Kontrastmittel für die Kernspintomographie (MRI = Magnetic Resonance Imaging). Es ist besonders gut für die Diagnose pathologischer Bereiche (z. B. Entzündungen, Tumore etc.) geeignet. Die Verbindung wird nach intravenöser Injektion über die Nieren eliminiert; eine extrarenale Ausscheidung wird praktisch nicht beobachtet.

Ein Nachteil von Magnevist® ist, daß es sich nach intravenöser Applikation gleichmäßig zwischen dem vasalen und dem interstitiellen Raum verteilt. Somit ist eine Abgrenzung der Gefäße gegenüber dem umliegenden interstitiellen Raum nicht möglich.

Für Perfusionsuntersuchungen ist ein Kontrastmittel notwendig, welches sich ausschließlich im vasalen Raum (Gefäßraum) verteilt. Ein solches "blood-pool-agent" soll es ermöglichen, mit Hilfe der Kernspintomographie gut durchblutetes von schlecht durchblutetem Gewebe abzugrenzen und somit eine Ischämie zu diagnostizieren.

Weitere Anwendungsgebiete sind die Gefäßdarstellung mit Hilfe der Kernspintomographie (die sogenannte MR-Angiographie) und die bildliche Darstellung von Permeabilitätsstörungen von Blutgefäßen (wie z.B. in bösartigen Tumoren).

Bisher müssen sich die meisten der Patienten, bei denen Verdacht auf eine kardiovaskuläre Erkrankung besteht (diese Erkrankung ist die häufigste Todesursache in den westlichen Industrieländern), invasiven diagnostischen Untersuchungen unterziehen. In der Angiographie wird zur Zeit vor allem die Röntgen-Diagnostik mit Hilfe von iodhaltigen Kontrastmitteln angewandt. Diese Untersuchungen sind mit verschiedenen Nachteilen behaftet:
Sie sind mit dem Risiko der Strahlenbelastung, sowie mit Unannehmlichkeiten und Belastungen verbunden, die vor allem daher kommen, daß die iodhaltigen Kontrastmittel, verglichen mit NMR-Kontrastmitteln, in sehr viel höherer Konzentration angewandt werden müssen und nicht im Vasalraum verbleiben.

Es besteht daher ein Bedarf an NMR-Kontrastmitteln, die den vasalen Raum markieren können (blood-pool-agent). Diese Verbindungen sollen sich durch eine gute Verträglichkeit und durch eine hohe Wirksamkeit (hohe Steigerung der Signalintensität beim MRI) auszeichnen.

Der Ansatz, zumindest einen Teil dieser Probleme durch Verwendung von Komplexbildnern, die an Makro- oder Biomoleküle gebunden sind, zu lösen, war bisher nur sehr begrenzt erfolgreich.

So ist beispielsweise die Anzahl paramagnetischer Zentren in den Komplexen, die in den Europäischen Patentanmeldungen 0 088 695 und 0 150 884 beschrieben sind, für eine zufriedenstellende Bildgebung nicht ausreichend.

Makromoleküle sind generell als Kontrastmittel für die Angiographie geeignet. Albumin-Gd-DTPA (Radiology 1987; 162:205) z.B. zeigt jedoch 24 Stunden nach intravenöser Injektion bei der Ratte eine Anreicherung im Lebergewebe, die fast 30 % der Dosis ausmacht. Außerdem werden in 24 Stunden nur 20 % der Dosis eliminiert.

In der EP 0 233 619 werden blood-pool-agents auf der Basis von Polylysin-Gd-DTPA beschrieben. Diese Verbindungen sind jedoch mit dem Nachteil behaftet, daß nur eine unbefriedigende Ausscheidung der Komplexe und damit der in den Komplexen enthaltenen Schwermetallionen erfolgt.

Eine Verbesserung bezüglich der Ausscheidbarkeit brachten die in der EP 0 430 863 beschriebenen Kaskadenpolymer-Komplexe. Jedoch erfolgt auch hier in einem vertretbaren Zeitraum keine vollständige Ausscheidung, so daß die Gefahr der Freisetzung des Metalls aus dem Komplex besteht.

Auch makromolekulare Kontrastmittel auf der Basis von Kohlenhydraten, z.B. Dextran, sind beschrieben worden (Europäische Patentanmeldung 0 326 226). Der Nachteil dieser Verbindungen liegt darin, daß sie in der Regel nur 4,6 % des signalverstärkenden paramagnetischen Kations tragen.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es daher, neue diagnostische Mittel vor allem zur Erkennung von Gefäßerkrankungen zu finden, die die genannten Nachteile nicht besitzen, d.h. Metallkomplexe zu finden die nach intravenöser Applikation im Untersuchungszeitraum ein geringes Diffusionsvermögen durch die Gefäßwandungen zeigen und dennoch quantitativ ausgeschieden werden.

Diese Aufgabe wird durch die vorliegende Erfindung gelöst.

Es wurde gefunden, daß dendrimere Polymer-Komplexe der Formel I

$$A—(X)_b \qquad (I)$$

worin

A für einen stickstoffhaltigen Kern der Basismultiplizität b steht, wobei

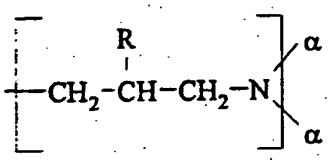
b die Summe der freien Valenzen des stickstoffhaltigen Kerns bedeutet und für Ziffern 1 bis 8 steht und

X für einen aus $\sum_{k=0}^{n-1} 2^k$ Reproduktionseinheiten S und 2^n bildgebenden Resten Y zusammengesetzten Rest steht

worin

n die Anzahl der Generationen bestimmt und für die Ziffern 1, 2, 3 oder 4 steht,

S für einen Rest der Formel II steht,

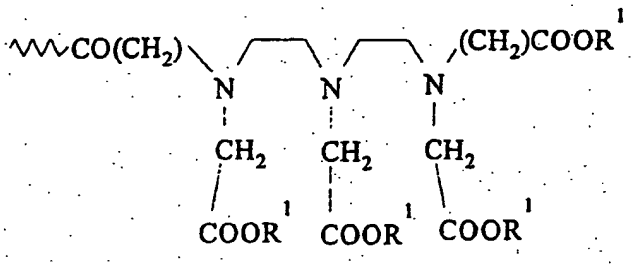


(II)

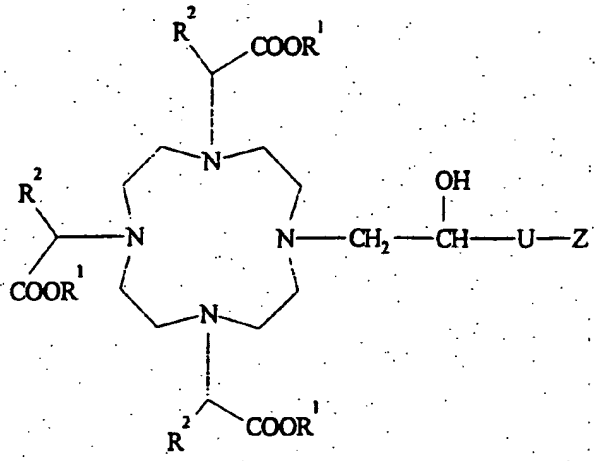
worin

R für ein Wasserstoffatom oder eine Methylgruppe steht und die Positionen

α für $0 \leq k \leq n-1$ durch weitere Reproduktionseinheiten S, und für die n-te Generation durch bildgebende Reste Y der Formel III oder IV besetzt sind,



(III)



(IV)

worin

R^1 unabhängig voneinander Wasserstoff oder ein Metallionenequivalent der Elemente der Ordnungszahlen 21-29, 39, 42-44 oder 57-83,

R^2 für ein Wasserstoffatom, einen Methyl- oder einen Ethylrest, der gegebenenfalls mit 1- 2 Hydroxylgruppen substituiert ist,

U für eine gegebenenfalls Imino-, Phenylen-, Phenylenoxy-, Phenylenimino-, Amid-, Hydrazid-, Carbonyl-, Estergruppen, Sauerstoff-, Schwefel- und/oder Stickstoff-Atom(e) enthaltende, gegebenenfalls durch Hydroxy-, Mercapto-,Oxo-, Thioxo-, Carboxy-, Carboxyalkyl-, Ester- und/oder Aminogruppe(n) substituierte geradkettige, verzweigte, gesättigte oder ungesättigte C_1-C_{20} Alkylengruppe und

Z für eine -CO-, -NH-CO- oder -NHCS-Gruppe steht,

wobei die Komplexe mindestens 8 - 64 Metallionen der genannten Elemente enthalten und freie Carbonsäuregruppen gewünschtenfalls als Salz einer anorganischen oder organischen Base oder Aminosäure vorliegen, überraschenderweise hervorragend als NMR-Diagnostika zur Kontrastierung des vasalen Raums geeignet sind, ohne die genannten Nachteile aufzuweisen.

Die dendrimeren Polymerkomplexe der vorliegenden Erfindung setzen sich also zusammen aus einem 1 bis 8 Stickstoffatome enthaltenden Kern, dessen freie Valenzen

in der ersten Generation jeweils mit einer 3-Aminopropyl- oder einer 3-Amino-2-methyl-propyl- Gruppe - den sogenannten Reproduktionseinheiten S - abgesättigt sind.

Den einfachsten dendrimeren Kern stellt ein Stickstoffatom dar, dessen drei freie Valenzen (Basismultiplizität b = 3) in der ersten Generation mit drei Reproduktionseinheiten besetzt sind (bzw. dessen drei Wasserstoffatome des zugrundeliegenden Ammoniaks durch die drei Reproduktionseinheiten S substituiert sind). Jede dieser drei Reproduktionseinheiten enthält ein terminales Stickstoffatom, dessen (beiden) freie Valenzen entweder

a) vollständig durch die bildgebenden Reste der Formel III oder IV abgesättigt sind oder

b) durch jeweils eine weitere Reproduktionseinheit S besetzt sind.

Diese zweite Generation besteht im Falle des vorgenannten Beispiels eines Stickstoffkerns aus 6 (3 x 2) Reproduktionseinheiten mit ebenso vielen terminalen Stickstoffatomen. Die insgesamt 12 (6 x 2) freien Valenzen der 2-ten Generation können nun entweder

a) durch die bildgebenden Reste der Formel III oder IV abgesättigt sein oder

b) wiederholt durch identische Reproduktionseinheiten S besetzt werden, so daß eine dritte Generation entsteht. Dieser 3-ten Generation kann sich gewünschtenfalls eine vierte anschließen.

Erfindungsgemäß geeignet sind dendrimere Polymer-Komplexe, die aus maximal 4 mindestens jedoch aus einer Generation bestehen. Die letzte (bzw. n-te) Generation weist dabei $2^n/2$ multipliziert mit der Basismultiplizität b terminale Stickstoffatome mit 2^n Positionen α auf, die vollständig mit bildgebenden Resten der Formel III oder IV besetzt sind. Dabei sind sowohl die Reproduktionseinheiten als auch die bildgebenden Reste innerhalb eines Moleküls identisch.

Die Anzahl der insgesamt im Molekül enthaltenen Reproduktionseinheiten wird durch die Anzahl der Generationen festgelegt und berechnet sich nach der Formel $b \cdot \sum_{k=0}^{n-1} 2^k$

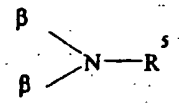
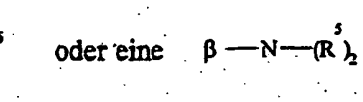
worin b für die Basismultiziplität, n für die Anzahl der Generationen und k für eine Laufziffer steht die von 0 bis n-1 läuft.

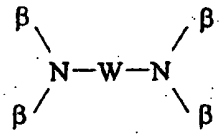
So enthält also z.B. ein aus drei Generationen (n = 3) bestehendes Polymer insgesamt

$b \cdot \sum_{k=0}^{3-1} 2^k \quad [= b \cdot (2^0 + 2^1 + 2^2)] = b \times 7$ identische Reproduktionseinheiten.

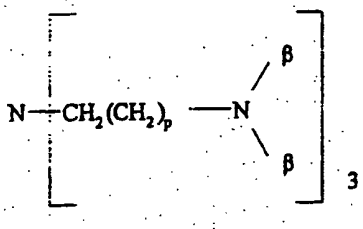
Für den vorgenannten Fall des Stickstoffkerns mit der Basismultiplizität b = 3 ergeben sich insgesamt also 21 (3 x 7) Reproduktionseinheiten S. Zusätzlich enthält das Polymer b x 2^n bildgebende Reste, im konkreten Fall also 24 (3 x 2^3).

X steht somit also für einen Zweig des dendrimeren polymeren Komplexes, der sich aus der Summe der Reproduktionseinheiten und den dazugehörigen bildgebenden Resten Y zusammensetzt.

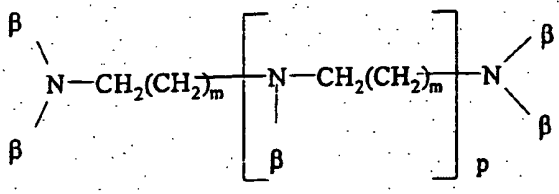
Als Kaskadenkerne A kommen prinzipiell beliebige stickstoffhaltige Kerne, mit maximal 8 freien Valenzen an den Stickstoffatomen, infrage. Neben dem genannten Stickstoffkern seien beispielhaft genannt eine  oder eine  Gruppe. Besonders geeignet ist jedoch ein Rest der allgemeinen Formel V, VI, VII, oder VIII,



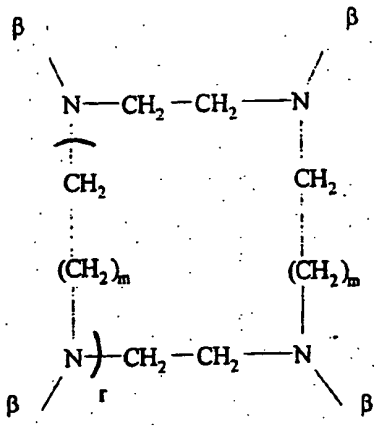
(V)



(VI)



(VII)



(VIII)

worin

R^5 für einen gegebenenfalls mit 1-4 OH-Gruppen substituierten Alkyl-, Aryl- oder Aralkylrest mit bis zu 12 C-Atomen steht,

β die Bindungsstelle zum Rest X markiert, wobei die Anzahl der β mit der Basismultiplizität b gleichzusetzen ist,

W für einen geradkettigen oder verzweigten Alkylen-, Arylen- oder Aralkylenrest mit bis zu 12 C-Atomen steht, der gegebenenfalls durch 1-4 Sauerstoffatome unterbrochen und/oder durch 1-4 Hydroxygruppen substituiert ist,

p für die Ziffern 1 bis 4,

m unabhängig voneinander für die Ziffern 1 oder 2 und

r für die Ziffern 1 bis 5 steht.

Als Beispiele für die dem Kaskadenkern A zugrundeliegenden Amine $A(H)_b$ seien Ammoniak, Trisaminoethylamin, 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan (Cyclen), 1,4,7,10,13,16-Hexaazacyclooctadecan, 1,3-Diaminopropan, 1,4-Diaminobutan, 1,5-Diaminopentan, 1,12-Diamino-4,9-dioxadodecan, 1,4,8,11-Tetraazaundecan, 1,5,8,12-Tetraazadodecan, 1,5,9,13-Tetraazatridecan, Diethylentriamin oder Triethylentetramin genannt.

Bevorzugt sind darunter Ammoniak, Tris(2-aminoethyl)amin, Diethylentriamin oder Cyclen, insbesondere jedoch 1,4-Diaminobutan.

Die Basismultiplizität β ergibt sich aus der Anzahl der Stickstoff-Wasserstoffbindungen des dem jeweiligen Kern entsprechenden Amins $A(H)_b$. So hat Ammoniak die Basismultiplizität 3, das Tris(2-aminoethyl)amin die Basismultiplizität

6, das Diethylentriamin die Basismultiplizität 5 und das 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan die Basismultiplizität 4.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen dendrimeren polymeren Komplexe der allgemeinen Formel I erfolgt, indem man ein dendrimeres Polymer mit terminalen (endständigen) Aminogruppen der Formel IX,

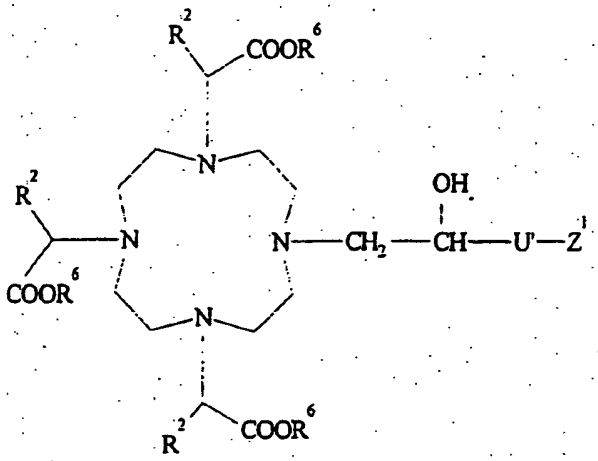
$$A\text{-}(X')_b \qquad (IX)$$

worin
A und b die in Anspruch 1 angegebenen Bedeutung haben und
X' für X steht, wobei jedoch im Unterschied zu X für die n-te Generation die Positionen α nicht durch die bildgebenden Reste Y, sondern durch Wasserstoffatome besetzt sind, mit einer reaktiven Vorstufe des Komplexbildners oder bildgebenden Komplexes in einer Acylierungs- oder Additionsreaktion umsetzt und anschließend - falls es sich bei der reaktiven Vorstufe um einen Komplexbildner handelt - mit Metallsalzen bzw. Metalloxiden der genannten Metalle zu dem gewünschten polymerverknüpften Komplex umsetzt.

Die als Ausgangsverbindung eingesetzten Aminogruppen-haltigen dendrimeren Polymere der Formel IX werden wie in der WO 93/14147 offenbart, hergestellt.

Sollen dendrimeren polymere Komplexe von bildgebenden Resten der Formel III erhalten werden, so findet als reaktive Vorstufe in der Regel das Monoanhydrid der Diethylentriaminpentaessigsäure (J. Pharm. Sci., 68 (1979) 194) Verwendung. Dieses wird analog zu den in der DE 42 32 925 offenbarten Verfahren zu den entsprechenden Amid-verknüpften Verbindungen umgesetzt wird.
Diese Umsetzung wird in flüssiger Phase in Gegenwart einer Base durchgeführt. Geeignete Reaktionsmedien sind beispielsweise Wasser, polare Lösungsmittel wie Tetrahydrofuran, Dioxan, Acetonitril, N-Methylpyrrolidon, Formamid, Dimethylformamid, Dimethylacetamid und dergleichen oder Gemische derselben. Die Umsetzung wird vorzugsweise bei pH 8-10, d.h. unter Zusatz von Basen wie z.B. Natrium- oder Kaliumhydroxid oder Triethylamin, bei Temperaturen von 0 - 50 °C, vorzugsweise bei Raumtemperatur, durchgeführt. Zur vollständigen Umsetzung arbeitet man vorzugsweise mit einem 2 - 3-fachen Überschuß Anhydrid.
Anschließend werden die so erhaltenen Komplexbildner, in an sich bekannter Weise, mit Metallsalzen oder Metalloxiden zu den erfindungsgemäßen Komplexen umgesetzt.

Sollen hingegen dendrimere polymere Komplexe von bildgebenden Resten der Formel IV erhalten werden, so wird als reaktive Vorstufe in der Regel eine Verbindung der allgemeinen Formel X



(X)

worin

R^2 die angegebene Bedeutung hat und

U' für U oder für eine Vorstufe von U steht,

R^6 für eine Säureschutzgruppe steht und/oder ein Metallionenequivalent bedeutet und

Z^1 für eine Isocyanat-, eine Isothiocyanat-, eine aktivierte Säuregruppe oder ein Lactonrest steht,

eingesetzt.

Für den Fall, daß R^6 für eine Säureschutzgruppe steht, wird diese im Anschluß an die Acylierung- oder Additionsreaktion in an sich bekannter Weise abgespalten und die so erhaltenen Verbindungen mit Metalloxiden oder Metallsalzen zu den erfindungsgemäßen Komplexen umgesetzt.

Als Beispiele für eine aktivierte Säuregruppe seien beispielhaft Anhydrid, p-Nitrophenylester, N-Hydroxysuccinimidester, Säurechlorid und eine durch ein Carbodiimid-Derivat in situ aktivierte Carbonsäure genannt.

Als Säureschutzgruppen R^6 kommen niedere Alkyl-, Aryl- und Aralkylgruppen, wie beispielsweise Methyl-, Ethyl-, Propyl-, n-Butyl-, t-Butyl-, Phenyl-, Benzyl-, Diphenylmethyl-, Triphenylmethyl-, bis(p-Nitophenyl)-methyl- oder Trialkylsilylgruppen in Frage.

Die Abspaltung der Säureschutzgruppen erfolgt nach den dem Fachmann bekannten Verfahren, beispielsweise durch Hydrolyse, Hydrogenolyse, alkalische Verseifung der

Ester mit Alkali in wäßrig-alkoholischer Lösung bei Temperaturen von 0 - 50 °C, saure Verseifung mit Mineralsäuren oder im Fall von z.B. tert.-Butylestern mit Hilfe von Trifluoressigsäure.

Die Acylierung erfolgt in flüssiger Phase in Gegenwart von anorganischen und/oder organischen Basen. Geeignete Reaktionsmedien sind z.B. Tetrahydrofuran, Dioxan, Acetonitril, Formamid, DMF, DMSO, Dimethylacetamid, Wasser und dergleichen oder Gemische derselben.

Additionsreaktionen von Isothiocyanaten mit den gewünschten Aminen des dendrimeren Polymeren werden in der Regel in polaren Lösungsmitteln, wie beispielsweise Wasser, Alkoholen wie z.B. Methanol, Ethanol oder Isopropanol, Tetrahydrofuran, Dioxan, Acetonitril, N-Methylpyrrolidon, Formamid, Dimethylformamid, Dimethylacetamid oder deren Gemischen, durchgeführt.

Analoge Additionsreaktionen von Isocyanaten werden vorzugsweise in wasserfreier flüssiger Phase nach literaturbekannten Verfahren durchgeführt (Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie, Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart, New York, Bd. E4 (1983) S. 768-784).

Die Herstellung der Metallkomplexe aus den Komplexbildnern erfolgt in der Weise, wie sie in den Patentschriften EP 0 071 564, EP 0 130 934 und DE 34 01 052 offenbart worden ist, indem man das Metalloxid oder ein Metallsalz (beispielsweise das Nitrat, Acetat, Carbonat, Chlorid oder Sulfat) des Elements der Ordnungszahlen 21-29, 39, 42-44 oder 57-83 in Wasser und/oder einem niederen Alkohol (wie Methanol, Ethanol, Isopropanol und/oder N,N-Dimethylformamid) löst oder suspendiert und mit der Lösung oder Suspension der äquivalenten Menge des Komplexbildners umsetzt.

Zur Erreichung eines physiologischen pH-Werts können abschließend acide Wasserstoffatome von Säure-Gruppen durch Kationen anorganischer und/oder organischer Basen oder Aminosäuren substituiert werden.

Als Basen kommen in Frage anorganische Basen (z. B. Hydroxide, Carbonate oder Bicarbonate) von z. B. Natrium, Kalium oder Lithium und/oder organische Basen wie unter anderem primäre, sekundäre und tertiäre Amine wie z.B. Ethanolamin, Morpholin, Glucamin, N-Methyl- und N,N-Dimethylglucamin, sowie basische Aminosäuren wie z. B. Lysin, Arginin und Ornithin.

Zur Herstellung der neutralen Komplexverbindungen kann man beispielsweise den sauren Komplexsalzen in wäßriger Lösung oder Suspension soviel der gewünschten Basen zusetzen, daß der Neutralpunkt erreicht wird. Die erhaltene Lösung kann anschließend im Vakuum zur Trockne eingeengt werden. Häufig ist es von Vorteil, die gebildeten Neutralsalze durch Zugabe von mit Wasser mischbaren Lösungsmitteln, wie z. B. niederen Alkoholen (Methanol, Ethanol, Isopropanol etc.), niederen Ketonen (Aceton etc.), polaren Ethern (Tetrahydrofuran, Dioxan, 1,2-Dimethoxyethan etc.) auszufällen und so leicht zu isolierende und gut zu reinigende Kristallisate zu erhalten. Als besonders vorteilhaft hat es sich erwiesen, die gewünschte Base bereits während der Komplexbildung der Reaktionsmischung zuzusetzen und dadurch einen Verfahrensschritt einzusparen.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind Mittel, welche mindestens eine der erfindungsgemäßen Verbindungen enthalten.

Die Erfindung betrifft weiterhin ein Verfahren zur Herstellung dieser Mittel, welches dadurch gekennzeichnet ist, daß der in Wasser gelöste dendrimere Polymer-Komplex mit den in der Galenik üblichen Zusätzen und Stabilisatoren in eine für die enterale bzw. parenterale Applikation geeignete Form gebracht wird, so daß der Komplex in einer Konzentration von 0,01 bis 1,0 Mol/l vorzugsweise in einer Konzentration von 0,1 bis 0,5 Mol/l vorliegt. Die resultierenden Mittel werden anschließend gewünschtenfalls sterilisiert. Sie werden in Abhängigkeit der diagnostischen Fragestellung in der Regel in einer Dosis von 0,01 - 0,3 mmol/kg Körpergewicht appliziert.

Geeignete Zusätze sind beispielsweise physiologisch unbedenkliche Puffer (wie z. B. Tromethamin oder Diethylentriaminpentaessigsäure), geringe Zusätze des jeweiligen polymeren, dendrimeren Komplexbildners, gegebenenfalls in Form eines physiologisch verträglichen Salzes, wie z.B. des Kalziumsalzes sowie Elektrolyte wie z. B. Natriumchlorid und/oder gewünschtenfalls Antioxidantien wie z. B. Ascorbinsäure.

Prinzipiell ist es auch möglich, die erfindungsgemäßen diagnostischen Mittel auch ohne Isolierung der polymeren Komplexverbindung herzustellen. In jedem Fall muß besondere Sorgfalt darauf verwendet werden, die Komplexierung so vorzunehmen, daß die erfindungsgemäßen Salze und Salzlösungen praktisch frei sind von nicht komplexierten toxisch wirkenden Metallionen.

Dies kann beispielsweise mit Hilfe von Farbindikatoren wie Xylenolorange durch Kontrolltitrationen während des Herstellungsprozesses gewährleistet werden. Als letzte Sicherheit bleibt eine Reinigung des isolierten Komplexsalzes.

Weitere Gegenstände der Erfindung sind durch die Ansprüche gekennzeichnet.

Die erfindungsgemäßen Substanzen erfüllen die vielfältigen Voraussetzungen, die an ein "blood-pool-agent" in der NMR-Diagnostik zu stellen sind. Die Verbindungen und aus ihnen hergestellte Mittel zeichnen sich aus durch:

- eine günstige Ausscheidungskinetik,
- eine gute Verträglichkeit,
- eine hohe Wirksamkeit, die notwendig ist, um den Körper mit möglichst geringen Mengen an Fremdstoffen zu belasten,
- geringe Osmolalität.

Insbesondere verbleiben die erfindungsgemäßen Verbindungen (bzw. Mittel) während des Untersuchungszeitraum ausschließlich im vasalen Raum, so daß eine Unschärfe im NMR-Bild, durch in den interstitiellen Raum diffundierendes Kontrastmittel, nicht beobachtet wird. Weiterhin weisen die erfindungsgemäßen Mittel nicht nur eine hohe Stabilität in vitro auf, sondern auch eine überraschend hohe Stabilität in vivo, so daß eine Freigabe oder ein Austausch der in den Komplexen gebundenen - an sich giftigen - Ionen innerhalb der Zeit, in der die neuen Kontrastmittel vollständig wieder ausgeschieden werden, nicht erfolgt.

Das nachfolgende Beispiel dient der näheren Erläuterung der Erfindungsgegenstandes, ohne ihn auf dieses beschränken zu wollen.

Die nachfolgend benutzte verkürzte Schreibweise "Diaminobutyl-Dendrimer-$(NH_2)_{32}$" steht für ein Dendrimer, das aus einem Diaminobutyl-Kern A und 60 Reproduktionseinheiten ($-CH_2-CH_2-CH_2-N<$) mit 32 terminalen NH_2-Gruppen aufgebaut ist.

Beispiel 1

a) *[10]-Carboxy-3,6,9-tris(carboxymethyl)-3,6,9-triazadecanoyl]-Derivat des Polyaminodendrimers Diaminobutyl-Dendrimer-$(NH_2)_{32}$*

3,51 g (1 mmol) des in Beispiel VIII der WO 93/14147 beschriebenen 32-Amins werden in 300 ml Wasser gelöst. Innerhalb 2 Stunden wrden anschließend 36,02 g (96 mmol) N^3-(2,6-Dioxomorpholinoethyl)-N^6-(ethoxycarbonylmethyl)-3,6-diaza-octandisäure (Beispiel 13a der EP 0 331 616) portionsweise in fester Form zugegeben, wobei der pH-Wert durch Zugabe von 1 N NaOH bei 8,5 gehalten wird. Nach Beendigung der Anhydrid-Zugabe wird die Lösung noch 2 Stunden bei pH 11 gerührt, dann stellt man mit Amberlite ® IR 120 (H^+-Form) auf pH 5 und saugt vom Ionenaustauscher ab. Die Lösung wird ultrafiltriert (AMICON ® YM 05-Membran) und das Retentat anschließend gefriergetrocknet.
Ausbeute: 15,6 g
H_2O-Gehalt (Karl-Fischer): 9,3 %
100 mg des wasserfreien Komplexbildners komplexieren
(Indikator: Xylenolorange) 29,6 mg Gd^{3+} (Besetzungsgrad mit DTPA > 91 %)

b) *Gd-Komplex des [10-Carboxy-3,6,9-tris(carboxymethyl)-3,6,9-triazadecanoyl]-Derivats des Polyaminodendrimers Diaminobutyl-Dendrimer-$(NH_2)_{32}$*

10,0 g des im vorstehenden Beispiel beschriebenen Komplexbildners werden in 300 ml H_2O gelöst und mit 3,41 g Gd_2O_3 (=2,96 g Gd) versetzt, 30 Minuten bei 80° C gerührt, nach Abkühlen auf pH 7 eingestellt, membranfiltriert und gefriergetrocknet.
Ausbeute: 12,5 leicht gelbliches, flockiges Lyophilisat
H_2O-Gehalt (Karl-Fischer): 8,2 %
Gd-Bestimmung (AAS): 22,9 %

Analyse (berechnet auf wasserfreie Substanz):

ber.:	C 37,08%	H 4,80%	Gd 24,58%	N 10,81%	Na 0,22%
gef.:	C 37,83%	H 5,19%	Gd 23,10%	N 10,97%	Na 0,51%

Patentansprüche

1. Dendrimere Polymer-Komplexe der Formel I

$$A—(X)_b \qquad (I)$$

worin

A für einen stickstoffhaltigen Kern der Basismultiplizität b steht, wobei

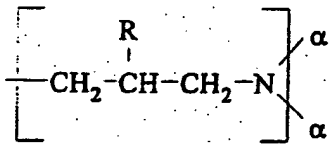
b die Summe der freien Valenzen des stickstoffhaltigen Kerns bedeutet und für Ziffern 1 bis 8 steht und

X für einen aus $\sum_{k=0}^{n-1} 2^k$ Reproduktionseinheiten S und 2^n bildgebenden Resten Y zusammengesetzten Rest steht

worin

n die Anzahl der Generationen bestimmt und für die Ziffern 1, 2, 3 oder 4 steht,

S für einen Rest der Formel II steht,

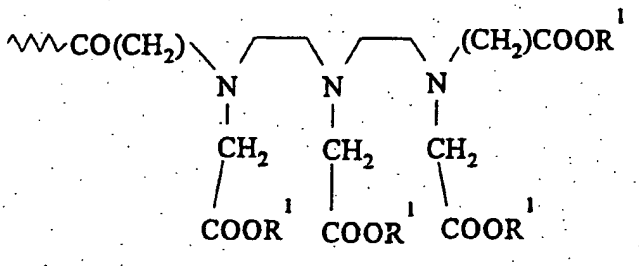


(II)

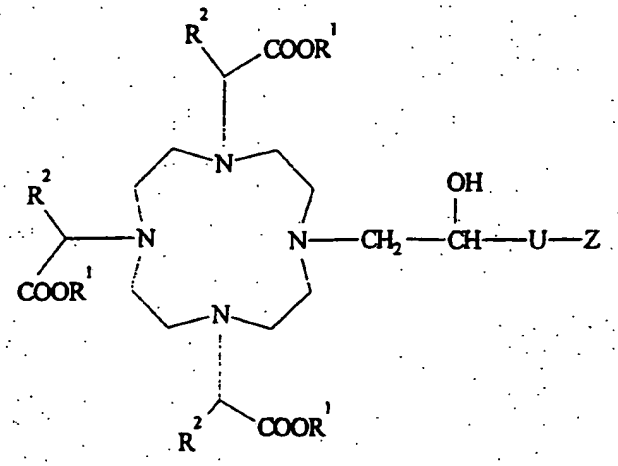
worin

R für ein Wasserstoffatom oder eine Methylgruppe steht und die Positionen

α für $0 \le k \le n-1$ durch weitere Reproduktionseinheiten S, und für die n-te Generation durch bildgebende Reste Y der Formel III oder IV besetzt sind,



(III)



(IV)

worin

R^1 unabhängig voneinander Wasserstoff oder ein Metallionenequivalent der Elemente der Ordnungszahlen 21-29, 39, 42-44 oder 57-83,

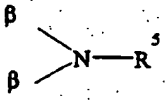
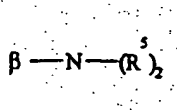
R^2 für ein Wasserstoffatom, einen Methyl- oder einen Ethylrest, der gegebenenfalls mit 1- 2 Hydroxylgruppen substituiert ist,

U für eine gegebenenfalls Imino-, Phenylen-, Phenylenoxy-, Phenylenimino-, Amid-, Hydrazid-, Carbonyl-, Estergruppen, Sauerstoff-, Schwefel- und/oder Stickstoff-Atom(e) enthaltende, gegebenenfalls durch Hydroxy-, Mercapto-,Oxo-, Thioxo-, Carboxy-, Carboxyalkyl-, Ester- und/oder Aminogruppe(n) substituierte geradkettige, verzweigte, gesättigte oder ungesättigte C_1-C_{20} Alkylengruppe und

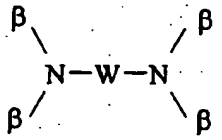
Z für eine -CO-, -NH-CO- oder -NHCS-Gruppe steht,

wobei die Komplexe mindestens 8 - 64 Metallionen der genannten Elemente enthalten und freie Carbonsäuregruppen gewünschtenfalls als Salz einer anorganischen oder organischen Base oder Aminosäure vorliegen.

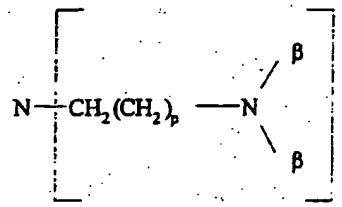
2. Dendrimere Polymerkomplexe gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,

daß der Kern A für ein Stickstoffatom, einen Rest  , 

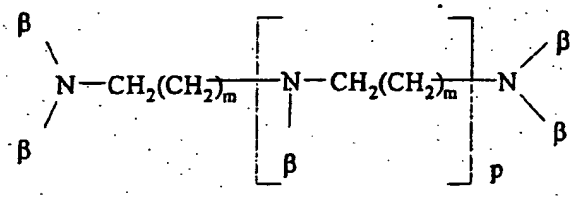
oder einen Rest der allgemeinen Formel V, VI, VII, oder VIII steht,



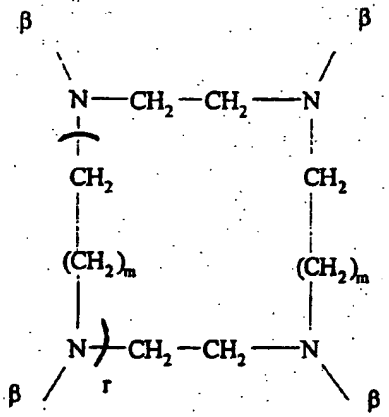
(V)



(VI)



(VII)



(VIII)

worin

R^5 für einen gegebenenfalls mit 1-4 OH-Gruppen substituierten Alkyl-, Aryl- oder Aralkylrest mit bis zu 12 C-Atomen steht,

β die Bindungsstelle zum Rest X markiert, wobei die Anzahl der β mit der Basismultiplizität b gleichzusetzen ist,

W für einen geradkettigen oder verzweigten Alkylen-, Arylen- oder Aralkylenrest mit bis zu 12 C-Atomen steht, der gegebenenfalls durch 1-4 Sauerstoffatome unterbrochen und/oder durch 1-4 Hydroxygruppen substituiert ist,

p für die Ziffern 1 bis 4,

m unabhängig voneinander für die Ziffern 1 oder 2 und

r für die Ziffern 1 bis 5 steht.

3. Dendrimere Polymerkomplexe gemäß Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß der Kern A für eine Gruppe $>N-(CH_2)_4-N<$ steht.

4. Diagnostische Mittel enthaltend mindestens einen dendrimeren Polymer-Komplex nach Anspruch 1-3 in einem physiologisch verträglichen Medium, gegebenenfalls mit den in der Galenik üblichen Zusätzen.

5. Verwendung eines dendrimeren Polymer-Komplexes nach Anspruch 1 zur Herstellung von Mitteln für die NMR- oder Röntgen-Diagnostik.

6. Verfahren zur Herstellung eines dendrimeren Polymer-Komplexes nach Anspruch 1-3, dadurch gekennzeichnet, daß dendrimere Polymere der Formel IX

$$A-(X')_b \qquad (IX)$$

worin
A und b die angegebenen Bedeutungen haben und
X' für X steht, wobei jedoch im Unterschied zu X für die n-te Generation die Positionen α nicht durch die bildgebenden Reste Y, sondern durch Wasserstoffatome besetzt sind, mit einer reaktiven Vorstufe des Komplexbildners oder bildgebenden Komplexes in einer Acylierungs- oder Additionsreaktion umsetzt und anschließend, falls es sich bei der Reaktiven Vorstufe um einen Komplexbildner handelt, mit Metallsalzen oder Metalloxiden eines Metalls der genannten Ordnungzahlen zu den gewünschten Komplexen umsetzt.

7. Verfahren nach Anspruch 6 enthaltend als reaktive Vorstufe einen eine aktivierte Carbonsäure-, Isocyanat- oder Isothiocyanatgruppe enthaltenden Komplexbildner oder Komplex.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. ..al Application No
PCT/EP 94/04016

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 C08GB5/00 A61K49/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 6 C08G A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO,A,91 05762 (SALUTAR) 2 May 1991 see page 17 - page 22	

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
30 March 1995	27.04.95

Name and mailing address of the ISA	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016	Stienon, P

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Interi. .nal Application No
PCT/EP 94/04016

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO-A-9105762	02-05-91	AU-B-	656689	09-02-95
		AU-B-	5314594	17-03-94
		AU-B-	647424	24-03-94
		AU-A-	6639690	16-05-91
		EP-A-	0497926	12-08-92
		JP-T-	5504125	01-07-93
		US-A-	5281704	25-01-94

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intern. ...ales Aktenzeichen
PCT/EP 94/04016

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 C08G85/00 A61K49/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 6 C08G A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO,A,91 05762 (SALUTAR) 2.Mai 1991 siehe Seite 17 - Seite 22	

☐ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
30.März 1995	27. 04. 95

Name und Postanschrift der Internationale Recherchenbehörde	Bevollmächtigter Bediensteter
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016	Stienon, P

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Intern. aales Aktenzeichen
PCT/EP 94/04016

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO-A-9105762	02-05-91	AU-B-	656689	09-02-95
		AU-B-	5314594	17-03-94
		AU-B-	647424	24-03-94
		AU-A-	6639690	16-05-91
		EP-A-	0497926	12-08-92
		JP-T-	5504125	01-07-93
		US-A-	5281704	25-01-94